Aus der Medizinischen Klinik der Universität Würzburg
(Direktor: Professor Dr. K. Kochsiek)

ELEKTROLYTGEHALT, PROTEINKONZENTRATION, ADENYLATCYCLASE- UND AMYLASEAKTIVITÄT DER GLANDULA SUBMANDIBULARIS DES MEERSCHWEINCHENS NACH DURCHTRENNUNG DER CHORDA TYMPANI

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n
verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Herbert Kollaschinski
aus Bad Mergentheim

Würzburg, den 2. Juli 1982

Aus der Medizinischen Klinik der Universität Würzburg

(Direktor: Professor Dr. K. Kochsiek)

ELEKTROLYTGEHALT, PROTEINKONZENTRATION, ADENYLATCYCLASE- UND AMYLASEAKTIVITÄT DER GLANDULA SUBMANDIBULARIS DES MEERSCHWEINCHENS NACH DURCHTRENNUNG DER CHORDA TYMPANI

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Herbert Kollaschinski

aus Bad Mergentheim

Würzburg, den 2. Juli 1982

Referent:	Professor Dr.med. A. Heidland
Korreferent:	Professor Dr.med. K. Kochsiek
Dekan:	Professor Dr.med. K.-A. Bushe

Tag der mündlichen Prüfung: 23.7.1982

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Würzburg

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

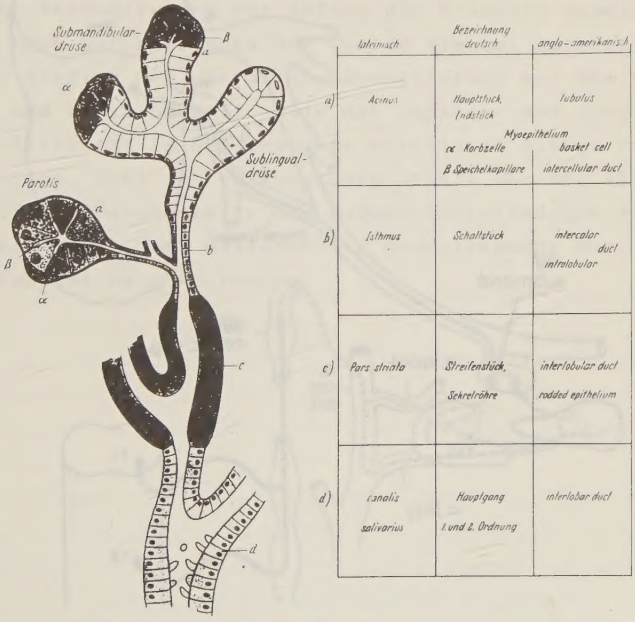
		Seite
I.	EINLEITUNG	1
II.	METHODIK	4
	1. Versuchsaufbau	4
	2. Probenaufbereitung	4
	3. Laborchemische Untersuchungen	5
	4. Statistische Auswertung	6
III.	ERGEBNISSE	8
	1. Natrium	8
	2. Kalium	10
	3. Calcium	12
	4. Chlorid	14
	5. Phosphat	16
	6. Gesamtprotein	18
	7. Amylaseaktivität	20
	8. Adenylatcyclase-Aktivität	22
IV.	DISKUSSION	24
V.	ZUSAMMENFASSUNG	33
L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S		I - VII

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543522_0076

I. EINLEITUNG

Die Speicheldrüsen sind durch ein gemeinsames Bauprinzip charakterisiert, das sich aus einem azinären und einem tubulären Funktionssystem zusammensetzt (Abb. 1). Ersteres ist für die Bildung des Primärsekretes verantwortlich. Dem tubulären Abschnitt sind polyvalente, sekretorische, resorptive und regulatorische Aufgaben hinsichtlich Transport und Modifikation des Primärsekretes zugeordnet (47). In zahlreichen Arbeiten konnte nachgewiesen werden, daß neben humoralen Faktoren (33) vorwiegend das Neurovegetativum die Regulation der Speichelproduktion über postganglionäre, sympathische und parasympathische Neuriten sicherstellt (14,20,24,51). Die Glandula submandibularis, der das besondere Augenmerk dieser Arbeit gilt, ist eine



	lateinisch	Bezeichnung deutsch	anglo-amerikanisch
a)	Acinus	Hauptstück, Endstück	tubulus
		Myoepithelium	
		α Korbzelle	basket cell
		β Speichelkapillare	intercellular duct
b)	Isthmus	Schaltstück	intercalar duct, intralobular
c)	Pars striata	Streifenstück, Sekretröhre	interlobular duct, rodded epithelium
d)	canalis salivarius	Hauptgang 1. und 2. Ordnung	interlobar duct

Abb. 1: Speicheldrüsenschema (nach Rauch, 1959)

tubuloazinäre Drüse, deren Sekretion sowohl vom sympathischen als auch vom parasympathischen Nervensystem gesteuert wird (52).
Cytochemische Ultrastrukturuntersuchungen offenbarten, daß diese Drüse von einem interstitiellen Plexus cholinerger und adrenerger Nerven versorgt wird (5,6,23). Die parasympathischen Fasern gehen vom Nucleus salivatorius superior aus und erreichen über die Nervi intermedius, facialis, Chorda tympani und lingualis das Ganglion submandibulare, von dort läuft das postganglionäre Neuron zur Drüse (Abb. 2). Der am Parenchym wirksame Transmitter ist cholinerger Natur. Der Ursprung der sympathischen Fasern liegt im Nucleus intermediolateralis (C8, Th1). Sie erreichen über das Ganglion cervicale superior entlang

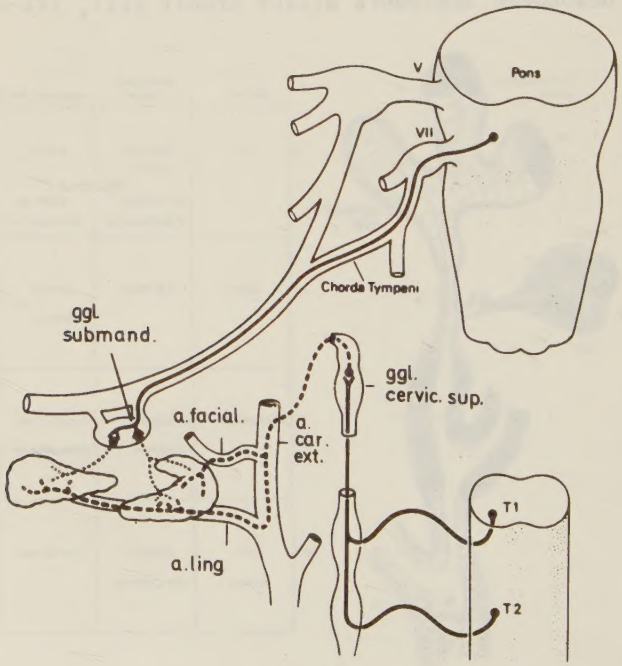


Abb. 2: Sympathische (-----) und parasympathische (———) Innervierung der Glandula submandibularis und sublingualis (nach Münzel, 1976)

der Hals- und Gesichtsgefäße die Glandula submandibularis (Abb. 2). Der Transmitter ist hierbei adrenerger Natur.

Alterationen der vegetativen Steuerung bedingen direkt Struktur- und Funktionsveränderungen der Drüsenzellen. Dieses Phänomen konnte in zahlreichen pharmakologischen Studien an der menschlichen Glandula parotis nachgewiesen werden. Nach sympathischer Stimulation mit Isoproterenol konnte neben einer raschen Sekretabgabe eine Anregung der Proteinsynthese beobachtet werden. Eine parasympathische Stimulierung resultiert vergleichsweise in einer geringen Sekretabgabe und Proteinresynthese. Störungen der Sekretabgabe und Proteinsynthese zeigten sich nach guacalin-induzierter Sympathicolyse, während eine scopolamin - bedingte Parasympathicolyse zu Störungen der Sekretbildung und Sekretabgabe führten (22,26,44,63).

In verschiedenen Arbeiten wurden histologische und histochemische Veränderungen der Zellen der Glandula submandibularis nach Durchtrennung der Chorda tympani untersucht. Über den Einfluß der operativen Denervierung auf den Elektrolyt- und Proteingehalt sowie die Amylase- und Adenylatcyclase-Aktivität im Drüsengewebe existieren bisher keine Erkenntnisse. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, Alterationen dieser Parameter in der Submandibularisdrüse des Meerschweinchens nach unilateraler Durchtrennung der Chorda tympani zu untersuchen.

II. METHODIK

1. Versuchsaufbau

Die Versuche wurden an 2 Kollektiven von je 25 im Mittel 200 g schweren Meerschweinchen beiderlei Geschlechts durchgeführt. Bei allen Tieren wurde einseitig die Chorda tympani nach der von Eitschberger und Mitarbeitern entwickelten Methode durchtrennt.
Hierbei wurde zunächst ein medianer Schädelhautschnitt geführt und der rechtsseitige Musculus temporalis von der Kalotte und der lateralen Attikwand abgeschoben. Das Epitympanon wurde aufgefräst und die Chorda tympani vor dem Hammerkopf identifiziert. Sie wurde anschließend mit einem spitzkonischen Diamanten durchtrennt. Die Operation erfolgte in Urethan-Narkose.
Nach 6 Tagen wurden im ersten Kollektiv, nach 22 Tagen im zweiten Kollektiv die Auswirkungen auf den Elektrolyt- und Proteingehalt sowie Amylase- und Adenylatcyclase-Aktivität der betreffenden Glandula submandibularis im Vergleich zur gesunden kontralateralen Drüse untersucht.
Hierzu wurden in Äthernarkose nach einem medianen Mundbodenschnitt die Submandibularisdrüsen freigelegt und entnommen. Dieser Versuchsabschnitt wurde stets zur gleichen Tageszeit ausgeführt, um circadiane Veränderungen (1) zu vermeiden.

2. Probenaufbereitung

Nach der Entnahme wurden die Drüsen in zwei Hälften geteilt und das jeweilige Naßgewicht bestimmt. Eine Hälfte wurde in destilliertem Wasser unter Verwendung eines Potter-Homogenisators homogenisiert und nachfolgend dreimal bei 3 000 g zentrifugiert. Im Anschluß daran wurden im Überstand die

Messungen durchgeführt. Die zweite Drüsenhälfte wurde für die Bestimmung der Adenylatcyclase-Aktivität aufbereitet (siehe II 3). Die gemessenen Werte wurden bei Elektrolyten, Protein und Amylase-Aktivität auf mg Drüsennaßgewicht bezogen.

3. Laborchemische Untersuchungen

Natrium, Kalium und Calcium wurden flammenphotometrisch bestimmt.
Die Messung von Chlorid erfolgte durch Titration mit Silbernitrat (28).
Die Bestimmung des anorganischen Phosphates wurde mittels der Molybdänblau-Reaktion durchgeführt (28).
Protein wurde nach der von Lowry et al. entwickelten Methode bestimmt (34). Als Eichprotein diente eine Standardlösung von Rinderserumalbumin, 1 mg/ml.
Die Amylase-Aktivität wurde mit dem Phadebas^{R}-Test ermittelt.
Zur Präparation der Adenylatcyclase wurde die Drüse in Puffer aufgenommen, der 0,25 M Saccharose, 1 mM EDTA, 2 mM $MgCl_2$, 3 mM Dithiothreit und 100 mM Tris-HCl, pH 7,5 enthielt. Anschließend wurde das Gewebe in einem Potter-Homogenisator homogenisiert und bei 3 000 g zentrifugiert. Das Präzipitat wurde zweimal in oben genanntem Puffer gewaschen und zentrifugiert. Das resultierende Pellet wurde nun im fünffachen Puffervolumen (bezogen auf das ursprüngliche Naßgewicht) aufgenommen, in einem Glas-Homogenisator resuspendiert und der Proteingehalt nach der Methode von Lowry et al. bestimmt (8,16).
Das Versuchssystem zur Bestimmung der Adenylatcyclase-Aktivität enthielt in 100 µl 1,6 mM $[\alpha^{32}P]$ ATP (20 - 40 cpm/pmol), 3,6 mM $MgCl_2$, 8 mM Theophyllin, 0,1 % Albumin, 0,36 mM Glycylglycin, 0,18 mM $MgSO_4$, 8 mM NaF und 30 mM Tris-HCl, pH 7,5. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 50 µl Homogenat gestartet

und dieser Ansatz 10 min bei 37°C inkubiert. Am Ende der Inkubationszeit wurden 250 µl einer Lösung zugegeben, die 3 mM cAMP und 0,05 µCi ^{3}H-cAMP in 10 mM Tris-HCl Puffer, pH 7,5 enthielt. Die Reaktion wurde durch fünfminütiges Erhitzen bei 90°C im Heizblock gestoppt (46).
Zur Isolierung des cAMP wurden zu jedem Gefäß 0,75 ml 5 mM Tris-HCl, pH 7,5 gegeben und der Inhalt durchmischt. Das Reaktionsgemisch wurde auf Säulen (0,4 x 15 cm) gegeben, die 1 g neutrales Aluminiumhydroxid enthielten und vorher mit dem gleichen Puffer äquilibriert worden waren. Nach Zugabe von 2 ml Tris-Puffer zu jeder Säule wurde das Eluat direkt in Szintillationsgefäßen gesammelt. ^{32}P und ^{3}H wurden in einem Dreikanal-Packard-Flüssigkeitszähler gemessen (50).

Berechnung der counts per minute (cpm):

$$cpm = \frac{\left[^{32}P\right] \times \left[^{3}H - cAMP - Standard\right]}{\left[^{3}H\right]}$$

Berechnung der spezifischen Aktivität:

$$\text{spez. Akt.} = \frac{cpm \times 0{,}15 \times 10^{-6}}{\text{Zeit} \times \text{mg Protein} \times \left[\text{ATP-Standard}\right]}$$

4. Statistische Auswertung (21,48)

Arithmetischer Mittelwert ($\bar{x}$):

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum x_i$$

Standardabweichung (SD):

$$SD = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum (x_i - \bar{x})^2}$$

Fehler des Mittelwertes (SEM):

$$SEM = \frac{1}{\sqrt{n}} SD$$

Mittels des gepaarten t-Testes wurden die Drüsen der linken gesunden Seite mit den Drüsen der operierten rechten Seite verglichen:

t-Test für verbundene Stichproben:

$$t = \frac{(\bar{d} - o)\sqrt{n}}{SD}$$

dabei ist

$$\bar{d} = \frac{1}{n} \sum (x_i - y_i)$$

und

$$SD = \sqrt{\frac{1}{n - 1} \sum (d_i - \bar{d})^2}$$

Mit Hilfe des ungepaarten t-Testes wurde das Kollektiv 6 Tage nach Operation mit dem 22 Tage nach Operation verglichen.

t-Test für unverbundene Stichproben:

$$t = \frac{\bar{x} - \bar{y}}{\sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}} \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2 + \sum (y_i - \bar{y})^2}{n_1 + n_2 - 2}}}$$

III. ERGEBNISSE

1. Natrium

Die Auswirkungen der Chordadurchtrennung auf die glanduläre Natrium-Konzentration werden in Tab. 1 sowie in Abb. 3 a + b dargestellt. Im Vergleich zur intakten kontralateralen Drüse fällt 6 Tage post operationem eine hochsignifikante Zunahme des Natriumgehaltes der denervierten Glandula submandibularis auf ($p < 0{,}001$). 22 Tage post operationem kommt es zu einer weiteren signifikanten Zunahme ($p = 0{,}04$).

	N_1	6 T.p.O.	N_2	22 T.p.O.
$\bar{x}$ (nmol/mg Drüsennaßgewicht)	49,92	58,20	51,04	64,13
SD	10,02	8,78	7,08	11,38
SEM	2,00	1,76	1,45	2,32
$\triangle$ %	17		26	
gepaarter t-Test	$p < 0{,}001$		$p < 0{,}001$	
ungepaarter t-Test	$p = 0{,}04$			

Tab. 1: Natriumveränderungen nach Durchtrennung der Chorda tympani

N_1: Kollektiv der nicht operierten Drüsen 6 Tage nach Denervierung

6 T.p.O.: Kollektiv der operierten Drüsen 6 Tage nach Denervierung

N_2: Kollektiv der nicht operierten Drüsen 22 Tage nach Denervierung

22 T.p.O.: Kollektiv der operierten Drüsen 22 Tage nach Denervierung

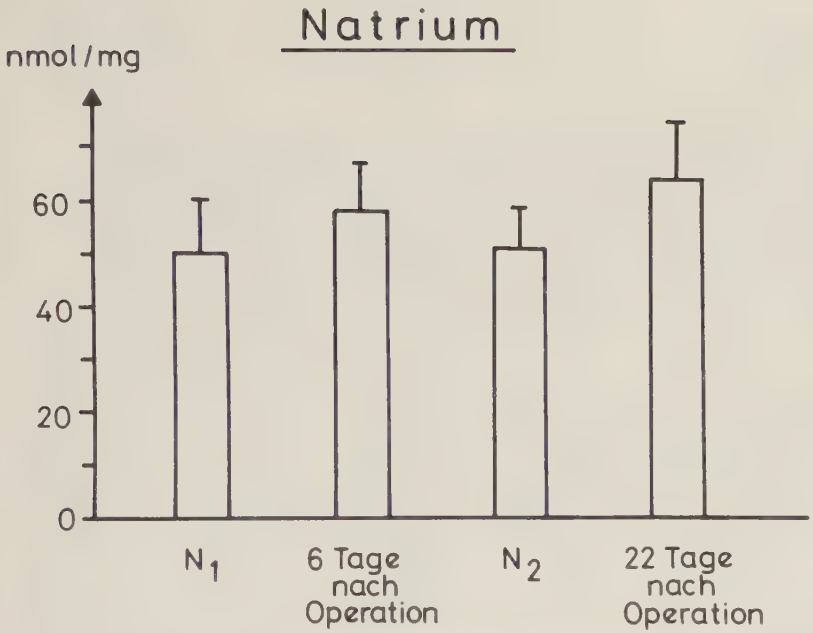


Abb. 3a

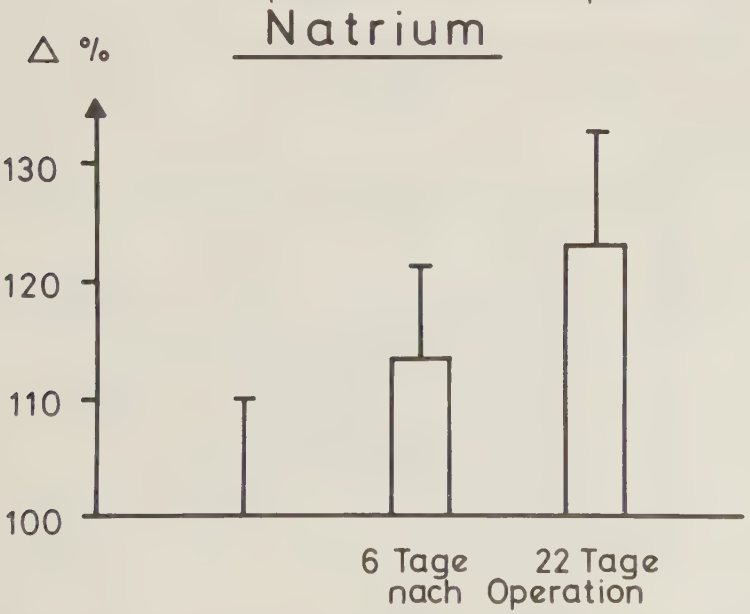


Abb. 3b

Abb. 3a + b: Natriumveränderungen nach Durchtrennung der Chorda tympani
100 % = Vergleichswerte der gesunden Drüsen

2. Kalium

Tab. 2 und Abb. 4 a + b beschreiben die Folgen der Denervierung auf den Kaliumgehalt der Drüse. Im Verlauf von 6 Tagen nach der Operation findet sich im Vergleich zur nicht operierten Drüse eine signifikante Abnahme der glandulären Kaliumkonzentration ($p < 0{,}001$), die sich im Verlauf der folgenden 16 Tage fortsetzt ($p < 0{,}001$).

	N_1	6 T.p.O.	N_2	22 T.p.O.
$\bar{x}$ (nmol/mg Drüsennaßgewicht)	63,08	56,12	61,21	47,21
SD	9,58	6,92	10,62	7,87
SEM	1,92	1,38	2,17	1,61
$\triangle$ %	12		30	
gepaarter t-Test	$p < 0{,}001$		$p < 0{,}001$	
ungepaarter t-Test	$p < 0{,}001$			

Tab. 2: Kaliumveränderungen nach Durchtrennung der Chorda tympani

N_1: Kollektiv der nicht operierten Drüsen 6 Tage nach Denervierung

6 T.p.O.: Kollektiv der operierten Drüsen 6 Tage nach Denervierung

N_2: Kollektiv der nicht operierten Drüsen 22 Tage nach Denervierung

22 T.p.O.: Kollektiv der operierten Drüsen 22 Tage nach Denervierung

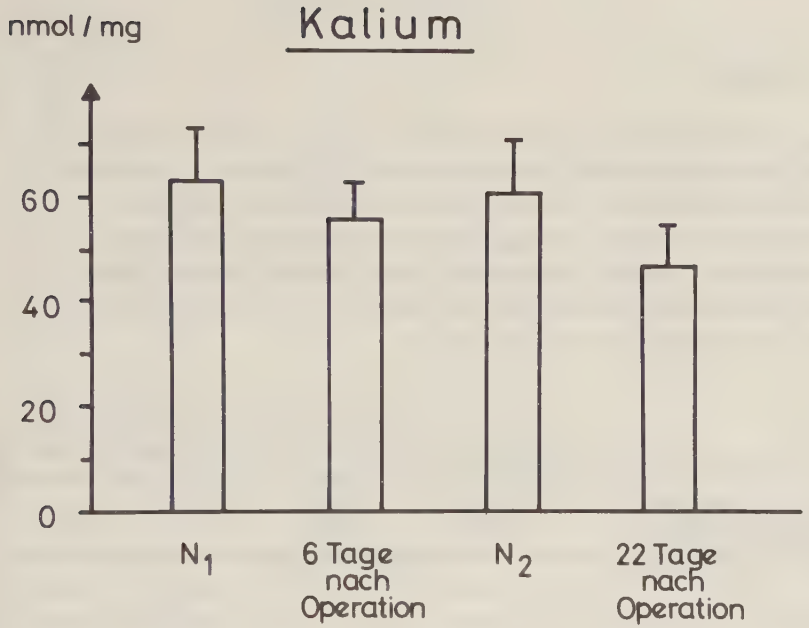


Abb. 4a

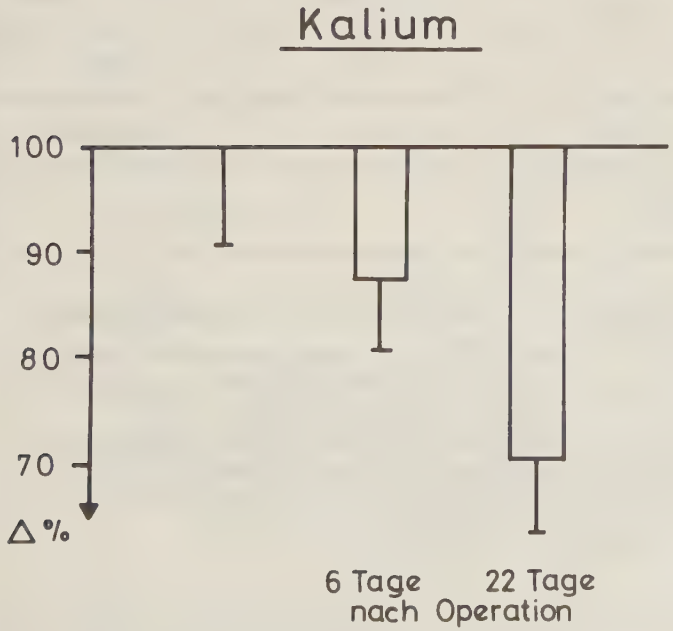


Abb. 4b

Abb. 4a + b: Kaliumveränderungen nach Durchtrennung der Chorda tympani
100 % = Vergleichswerte der gesunden Drüsen

3. Calcium

Das Verhalten der Calcium-Konzentration im Drüsengewebe nach Dissektion der Chorda tympani ist in Tab. 3 und Abb. 5a + b dokumentiert. 6 Tage nach dem Eingriff sind die Calcium-Spiegel im Homogenisat der denervierten Drüse signifikant erhöht ($p < 0{,}001$). Nach Ablauf von 22 Tagen ist eine weitere signifikante Zunahme der Calcium-Konzentration nachweisbar ($p = 0{,}004$).

	N_1	6 T.p.O.	N_2	22 T.p.O.
$\bar{x}$ (nmol/mg Drüsennaßgewicht)	3,73	5,27	3,84	6,03
SD	0,63	0,74	0,73	0,89
SEM	0,13	0,15	0,15	0,18
$\triangle$ %	41		57	
gepaarter t-Test	$p < 0{,}001$		$p < 0{,}001$	
ungepaarter t-Test	$p = 0{,}004$			

Tab. 3: Calciumveränderungen nach Durchtrennung der Chorda tympani

N_1: Kollektiv der nicht operierten Drüsen 6 Tage nach Denervierung

6 T.p.O.: Kollektiv der operierten Drüsen 6 Tage nach Denervierung

N_2: Kollektiv der nicht operierten Drüsen 22 Tage nach Denervierung

22 T.p.O.: Kollektiv der operierten Drüsen 22 Tage nach Denervierung

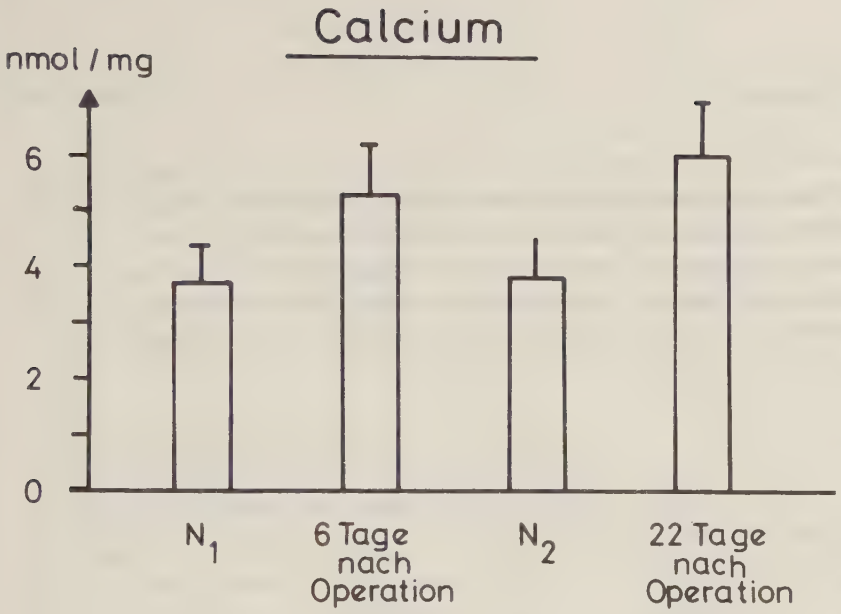


Abb. 5a

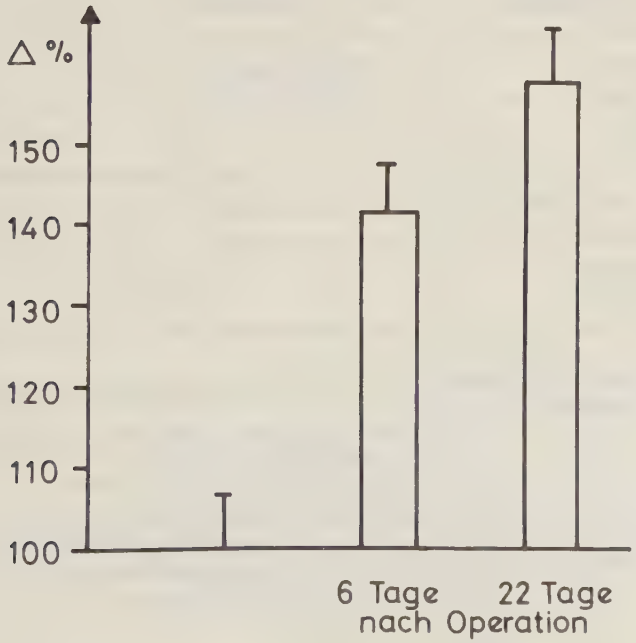


Abb. 5b

Abb. 5a + b: Calciumveränderungen nach Durchtrennung der Chorda tympani
100 % = Vergleichswerte der gesunden Drüsen

4. Chlorid

Denervierungsbedingte Veränderungen des Chlorid-Gehaltes der Submandibularisdrüse sind in Tab. 4 und Abb. 6a + b zusammengefaßt. 6 Tage nach Operation kommt es nur zu einem geringen Anstieg der Chlorid-Konzentration im Drüsengewebe, dagegen lassen sich 22 Tage nach Operation signifikant erhöhte Konzentrationen ($p < 0{,}001$) nachweisen.

	N_1	6 T.p.O.	N_2	22 T.p.O.
$\bar{x}$ (nmol/mg Drüsennaßgewicht)	38,6	42,8	39,3	51,3
SD	5,8	7,0	6,2	7,5
SEM	1,6	1,4	1,3	1,5
$\triangle$%	11		30	
gepaarter t-Test	nicht signifikant		$p < 0{,}001$	
ungepaarter t-Test	$p < 0{,}001$			

Tab. 4: Chloridveränderungen nach Durchtrennung der Chorda tympani

N_1: Kollektiv der nicht operierten Drüsen 6 Tage nach Denervierung

6 T.p.O.: Kollektiv der operierten Drüsen 6 Tage nach Denervierung

N_2: Kollektiv der nicht operierten Drüsen 22 Tage nach Denervierung

22 T.p.O.: Kollektiv der operierten Drüsen 22 Tage nach Denervierung

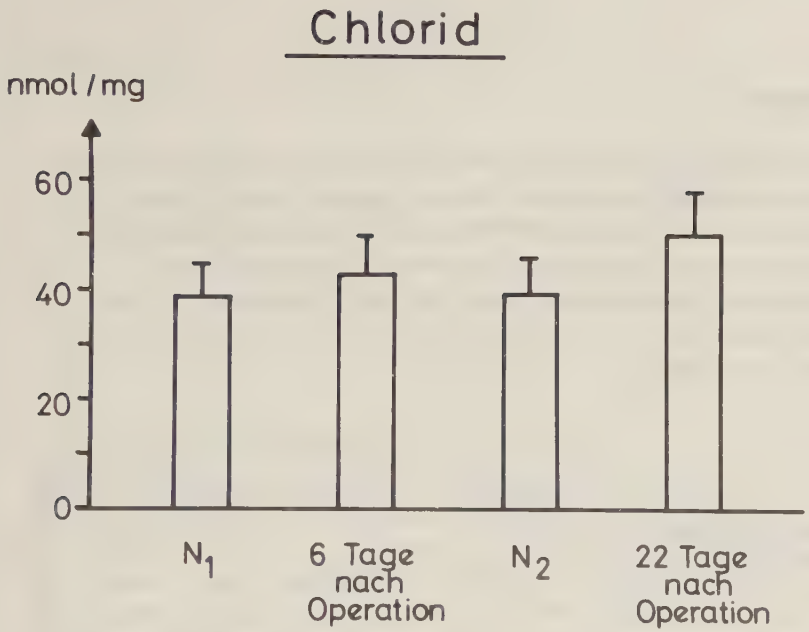


Abb. 6a

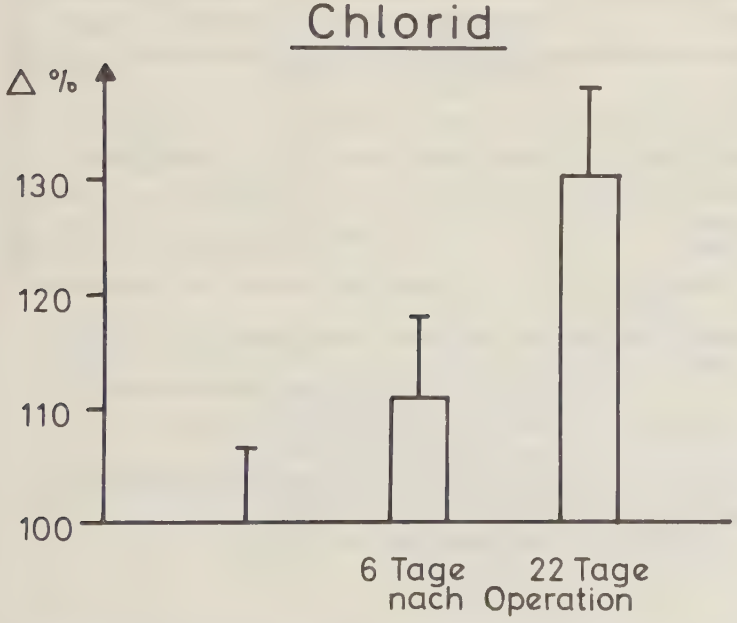


Abb. 6b

Abb. 6a + b: Chloridveränderungen nach Durchtrennung der Chorda tympani
100 % = Vergleichswerte der gesunden Drüsen

5. Phosphat

Variationen der glandulären Phosphat-Konzentrationen nach operativer Ausschaltung der Chorda tympani sind in Tab. 5 sowie Abb. 7a + b aufgeführt. Während 6 Tage post operationem lediglich ein tendentieller Anstieg des Phosphat-Gehaltes der denervierten Drüse auffällt, kommt es 22 Tage post operationem zu einer signifikanten Konzentrationszunahme ($p = 0{,}015$).

	N_1	6 T.p.O.	N_2	22 T.p.O.
$\bar{x}$ (nmol/mg Drüsennaßgewicht)	58,3	60,4	57,1	65,4
SD	13,1	12,8	15,8	16,7
SEM	2,6	2,6	3,2	3,4
$\triangle$%	4		15	
gepaarter t-Test	nicht signifikant		$p = 0{,}015$	
ungepaarter t-Test	nicht signifikant			

Tab. 5: Phosphatveränderungen nach Durchtrennung der Chorda tympani

N_1: Kollektiv der nicht operierten Drüsen 6 Tage nach Denervierung

6 T.p.O.: Kollektiv der operierten Drüsen 6 Tage nach Denervierung

N_2: Kollektiv der nicht operierten Drüsen 22 Tage nach Denervierung

22 T.p.O.: Kollektiv der operierten Drüsen 22 Tage nach Denervierung

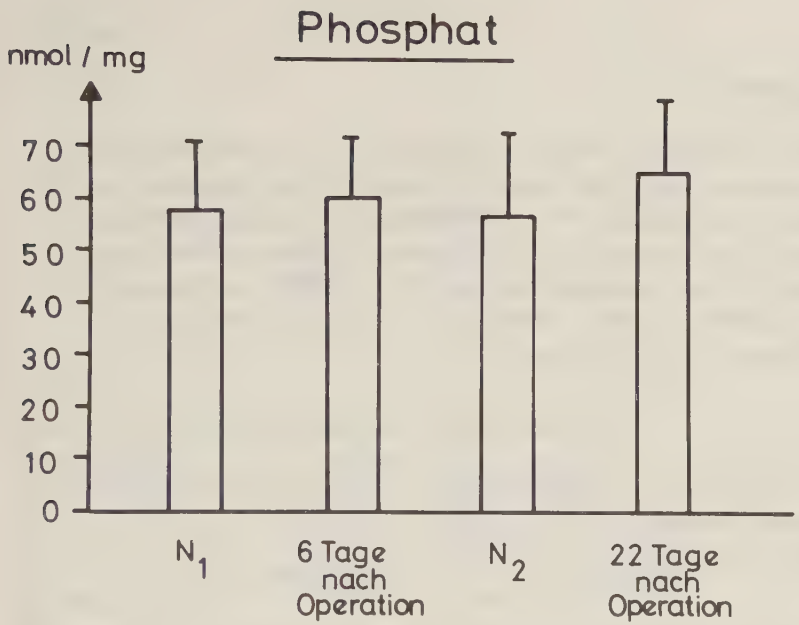


Abb. 7a

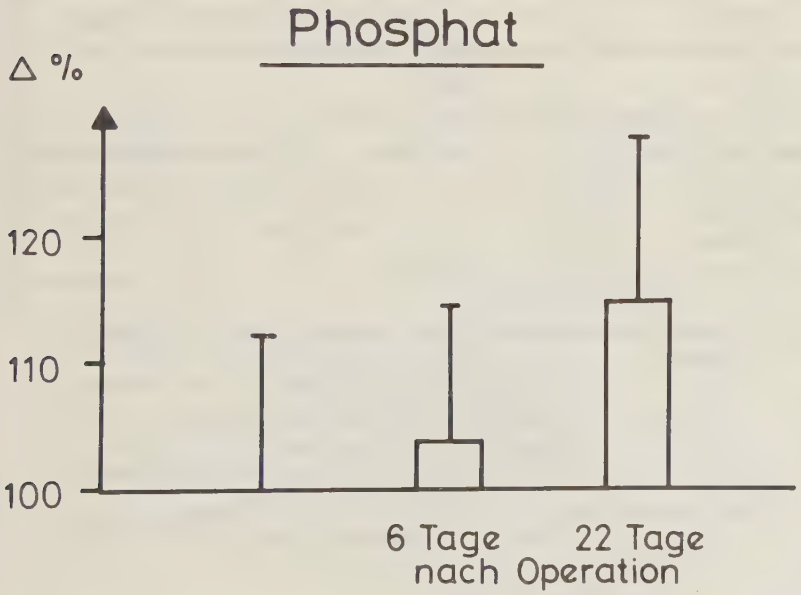


Abb. 7b

Abb. 7a + b: Phosphatveränderungen nach Durchtrennung der Chorda tympani
100 % = Vergleichswerte der gesunden Drüsen

6. Protein

In Tab. 6 und Abb. 8a + b ist der Effekt der parasympathischen Denervierung auf den Proteingehalt der Glandula submandibularis beschrieben. Nach Ablauf von 6 Tagen finden sich im Vergleich zur intakten Drüse hochsignifikant erniedrigte Proteinkonzentrationen ($p < 0{,}001$). Im Verlauf der folgenden 16 Tage kommt es zu einer weitgehenden Normalisierung dieses Parameters.

	N_1	6 T.p.O.	N_2	22 T.p.O.
$\bar{x}$ (µg/mg Drüsennaßgewicht)	13,49	10,20	13,55	12,87
SD	1,99	1,79	2,21	2,02
SEM	0,40	0,36	0,45	0,41
$\triangle$%	32		5	
gepaarter t-Test	$p < 0{,}001$		nicht signifikant	
ungepaarter t-Test	$p < 0{,}001$			

Tab. 6: Proteinveränderungen nach Durchtrennung der Chorda tympani

N_1: Kollektiv der nicht operierten Drüsen 6 Tage nach Denervierung

6 T.p.O.: Kollektiv der operierten Drüsen 6 Tage nach Denervierung

N_2: Kollektiv der nicht operierten Drüsen 22 Tage nach Denervierung

22 T.p.O.: Kollektiv der operierten Drüsen 22 Tage nach Denervierung

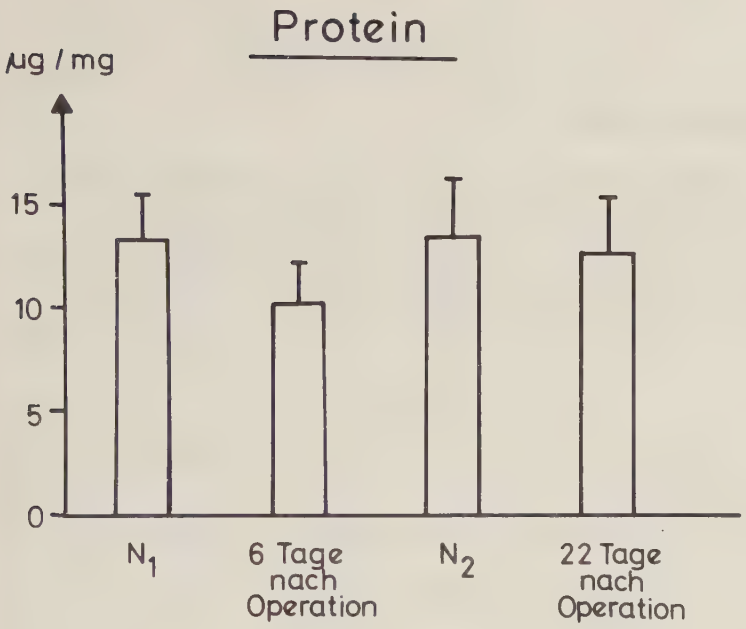


Abb. 8a

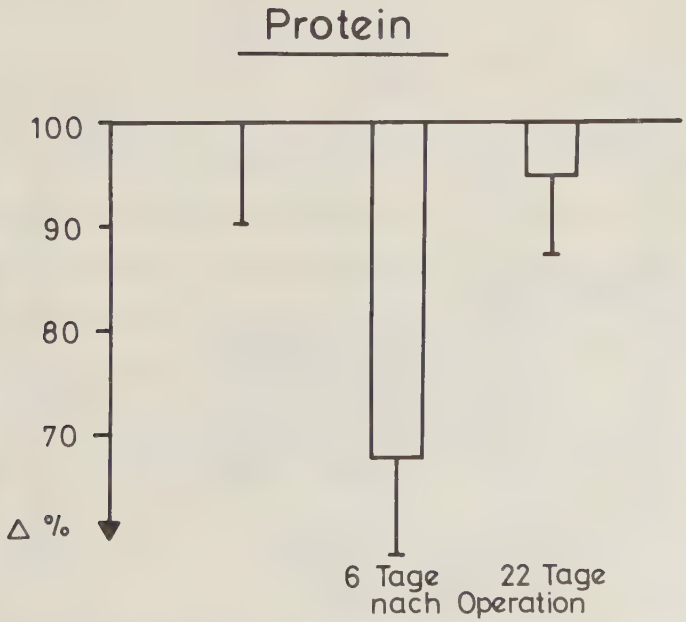


Abb. 8b

Abb. 8a + b: Proteinveränderungen nach Durchtrennung der Chorda tympani
100 % = Vergleichswerte der gesunden Drüsen

7. Amylase-Aktivität

In Tab. 7 sowie Abb. 9a + b sind die Folgen der Durchtrennung der Chorda tympani auf die Amylase-Aktivität im Drüsengewebe dargestellt. 6 Tage post operationem lassen sich hochsignifikante Aktivitätsabnahmen ($p < 0{,}001$) mit konsekutiver Normalisierung 22 Tage post operationem nachweisen.

	N_1	6 T.p.O.	N_2	22 T.p.O.
$\bar{x}$ (mU/mg Drüsennaßgewicht)	454	322	446	433
SD	71	81	76	67
SEM	14	16	15	14
$\triangle$%	41		3	
gepaarter t-Test	$p < 0{,}001$		nicht signifikant	
ungepaarter t-Test	$p < 0{,}001$			

Tab. 7: Veränderungen der Amylase-Aktivität nach Durchtrennung der Chorda tympani

N_1: Kollektiv der nicht operierten Drüsen 6 Tage nach Denervierung

6 T.p.O.: Kollektiv der operierten Drüsen 6 Tage nach Denervierung

N_2: Kollektiv der nicht operierten Drüsen 22 Tage nach Denervierung

22 T.p.O.: Kollektiv der operierten Drüsen 22 Tage nach Denervierung

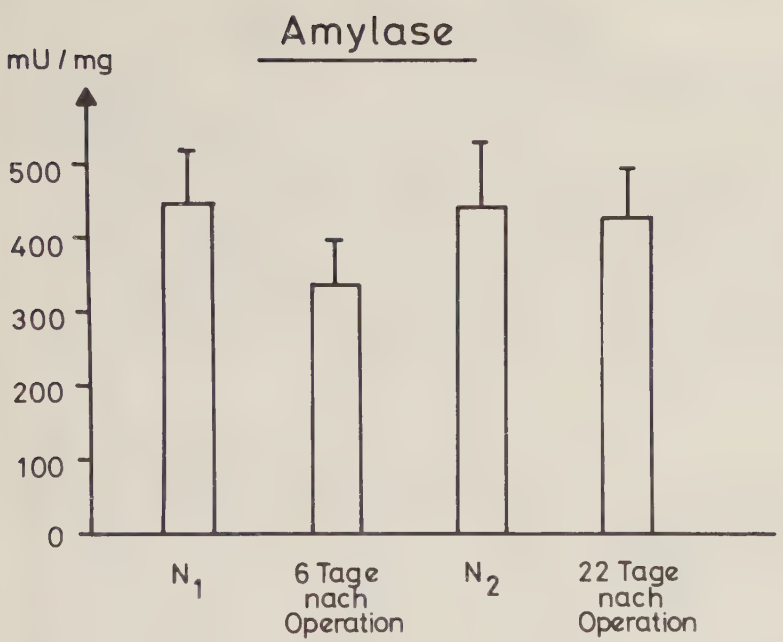


Abb. 9a

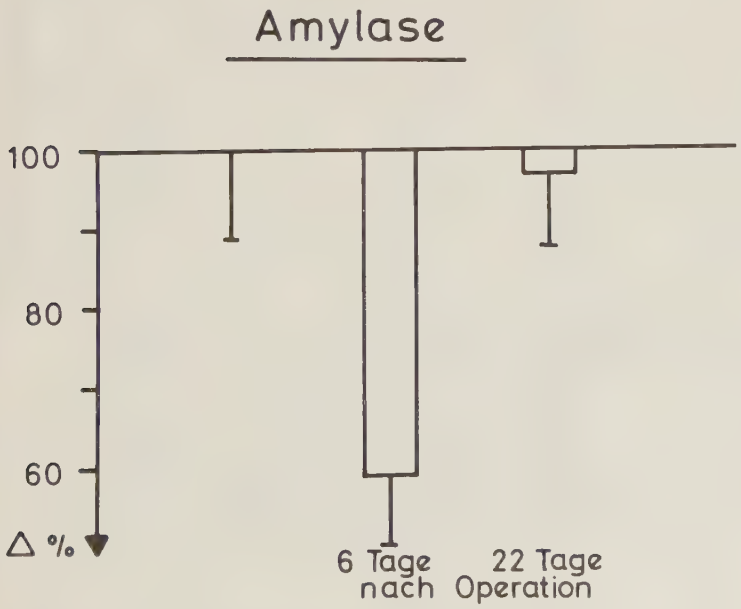


Abb. 9b

Abb. 9a + b: Veränderungen der Amylase-Aktivität nach Durchtrennung der Chorda tympani
100 % = Vergleichswerte der gesunden Drüsen

8. Adenylatcyclase-Aktivität

Die glanduläre Adenylatcyclase-Aktivität im Gefolge einer experimentellen Chorda-Ausschaltung ist in Tab. 8 und Abb. 10a + b zusammengefaßt. 6 Tage nach dem Eingriff finden sich im Vergleich zur kontralateralen Drüse signifikant erniedrigte Adenylatcyclase-Aktivitäten im Gewebe ($p < 0{,}001$). 22 Tage post operationem läßt sich lediglich eine Tendenz zur Normalisierung erkennen.

	N_1	6 T.p.O.	N_2	22 T.p.O.
$\bar{x}$ (pmol cAMP/ min x mg Protein)	5,19	3,51	3,21	3,67
SD	1,22	1,08	1,05	1,09
SEM	0,24	0,22	0,21	0,22
$\triangle$ %	48		42	
gepaarter t-Test	$p < 0{,}001$		$p < 0{,}001$	
ungepaarter t-Test	nicht signifikant			

Tab. 8: Veränderungen der Adenylatcyclase-Aktivität nach Durchtrennung der Chorda tympani
N_1: Kollektiv der nicht operierten Drüsen 6 Tage nach Denervierung
6 T.p.O.: Kollektiv der operierten Drüsen 6 Tage nach Denervierung
N_2: Kollektiv der nicht operierten Drüsen 22 Tage nach Denervierung
22 T.p.O.: Kollektiv der operierten Drüsen 22 Tage nach Denervierung

Adenylat - Cyclase

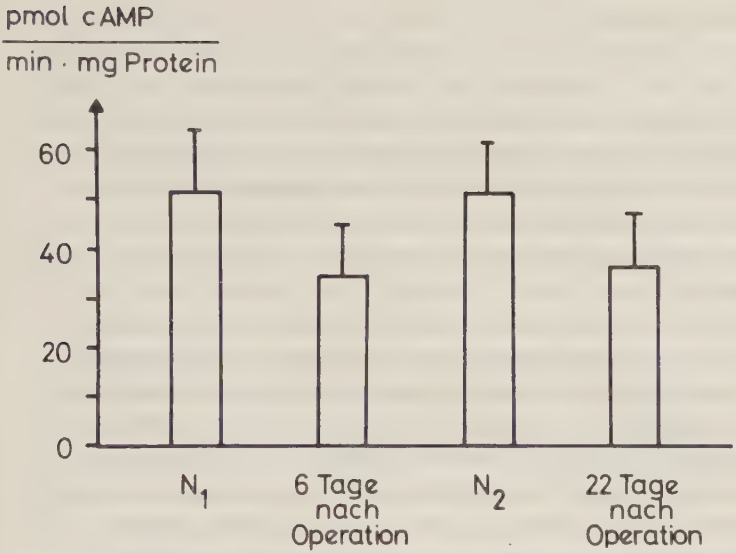


Abb. 10a

Adenylat - Cyclase

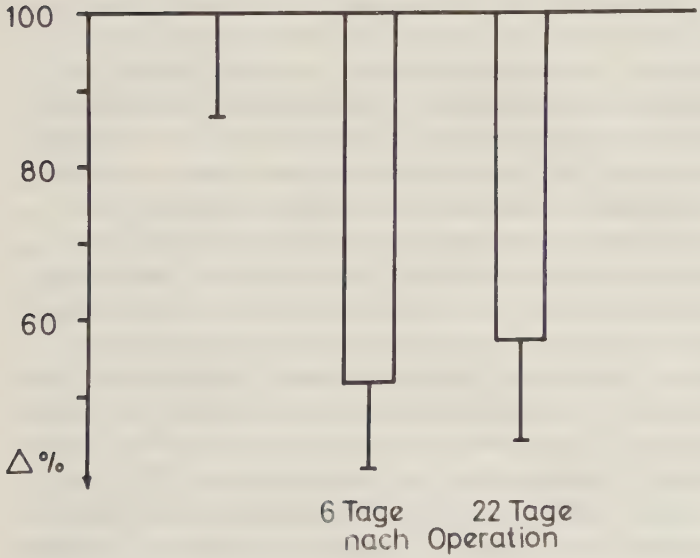


Abb. 10b

Abb. 10a + b: Veränderungen der Adenylatcyclase-Aktivität nach Durchtrennung der Chorda tympani
= Vergleichswerte der gesunden Drüsen

IV. DISKUSSION

Die Verbindung der Begriffe Stimulation - Sekretion im Zusammenhang mit Speicheldrüsen wurde erstmals 1963 von Douglas und Poisner gebraucht (15). Zwischenzeitlich sind große Fortschritte im Verständnis des Elektrolyttransportes und des Mechanismus der Amylase-Sekretion gemacht worden.
Die sezernierenden azinären Zellen der Speicheldrüsen werden sowohl vom parasympathischen als auch vom sympathischen Nervensystem versorgt, sie können somit sowohl durch Reizung der parasympathischen als auch der sympathischen Nerven stimuliert werden (35). Elektrophysiologische Untersuchungen haben deutlich die Existenz von 3 verschiedenen Rezeptoren an der gleichen Zelle aufgezeigt, nämlich α- und ß-adrenerge sowie muskarinische cholinerge Rezeptoren. Durch sowohl morphologische als auch biochemische Untersuchungen an isolierten Parotisscheiben der Ratte konnten Selinger und Mitarbeiter (3,4, 60) aufzeigen, daß die Erregung von α-adrenergen und muskarinischen cholinergen Rezeptoren hauptsächlich mit der Sekretion von Flüssigkeit zusammenhängt, während Stimulation der ß-adrenergen Rezeptoren zu massiver Protein-Sekretion führt. Der Sekretionsprozeß der wäßrigen Phase des Speichels wird hauptsächlich vom parasympathischen Ast des autonomen Nervensystems gesteuert (37,38). Nach Stimulation kommt es zum Efflux von Wasser, K^+ und mukösen Substanzen. Diese parasympathische Nerven - Drüsen - Interaktion wurde als muskarinisch klassifiziert. Der Transmitter, der an den Nervenendigungen freigesetzt wird, ist Acetylcholin (39). Untersuchungen von Haymovits et al. am Pankreas (27), Butcher et al. und Mangos an der Parotis (10,41) sowie Spearman an der Submandibularis (62) lassen vermuten, daß cGMP bei cholinerger Rezeptorenstimulation als second messenger fungiert. Die Aktivierung der α-adre-

nergen Rezeptoren, z.B. durch Adrenalin, führt zu einem K^+-Efflux aus der Zelle. Dieser Vorgang ist mit Wassertransport gekoppelt. Wasser ist notwendig, um die konzentrierten sekretorischen Proteine aus dem azinären Lumen in die Drüsengänge zu schwemmen und somit eine effiziente Sekretion zu gewährleisten (4).

α-adrenerge Stimulation führt somit zum gleichen Ergebnis wie cholinerge Erregung. Durch Verwendung spezifischer Inhibitoren konnte aber gezeigt werden, daß beide Mechanismen völlig unabhängig voneinander arbeiten. Durch Atropin wird die Sekretion nach cholinerger Stimulation blockiert, während sich jedoch kein Einfluß auf die durch α-adrenerge Erregung bedingte Sekretion nachweisen läßt. Phentolamin, ein spezifischer α-Blocker, unterbindet die durch Adrenalin induzierte Sekretion, hat aber keinen Einfluß auf die durch Acetylcholin hervorgerufene Reaktion (7,55). Es scheint, als ob es die Hauptfunktion des α-Rezeptors wäre, die Permeabilität der Zellmembran zu verändern. Das Vorhandensein dieses Rezeptors in solch verschiedenen Zellen wie glatter Muskel, Leber, Fettzellen und exokrinen Speicheldrüsen legt einen gemeinsamen Funktionsmechanismus nahe, da in allen Geweben eine erhöhte K^+-Permeabilität nach Aktivierung des α-Rezeptors gefunden wurde (60).

Die Aktivität des α-Rezeptors ist abhängig von Adrenalin und Ca^{++}, die die Reaktion nicht nur einleiten, sondern auch unterhalten. Experimentell konnte kein K^+-Efflux, selbst in Anwesenheit von Adrenalin, gefunden werden, bevor nicht Calcium zugefügt wurde (60). Aktivierte α-Rezeptoren wirken zudem wie Ionenschleusen, die Ca^{++} in die Zellen transportieren und den K^+-Efflux einleiten. Unter Einsatz eines spezifischen Calcium-Ionophoren konnten Selinger et al. (59) den intrazellulären Ca^{++}-Gehalt erhöhen. Diese Veränderung resultiert in einem signifikanten K^+-Efflux aus der Zelle, der weder durch α- noch durch cholinerge Rezeptoren vermittelt wurde, da weder Phentolamin noch Atropin

diese Reaktion beeinflußten. Somit dürfte Ca^{++} als second messenger sowohl nach α-adrenerger als auch nach cholinerger Stimulation fungieren (56). Ca^{++}-Ionen spielen für die cGMP-Bildung eine entscheidende Rolle, entsprechend konnte die Aktivierung der Guanyl-Cyclase durch Ca^{++} nachgewiesen werden (57). Somit geht Ca^{++}, das durch Neurotransmitteraktivierung in die Zelle eingebracht wurde, dem cGMP als Intermediärprodukt im Reaktionsweg voraus.
Sowohl Adrenalin als auch Noradrenalin, die an der sympathischen Nervenendigung freigesetzt werden, aktivieren nicht nur die α-, sondern auch die ß-adrenergen Rezeptoren. α-Stimulation führt zu extensiver Vakuolenbildung in den azinären Zellen und kann als zellulärer Marker für die α-adrenerge und cholinerge Reaktion gesehen werden. Erregung des ß-Rezeptors führt zur Fusion der Sekretionsgranula mit der Zellmembran und damit zur Sekretion der granulären Proteine in das Drüsenlumen. Die Vereinigung der Granula mit der Zellmembran bewirkt eine Erweiterung des Gangdurchmessers. Dieses Phänomen kann als zellulärer Marker für die Reaktion auf ß-Stimulation betrachtet werden (4).
Die Zellmembranen der azinären Zellen enthalten Adenylatcyclase, die z.B. durch Adrenalin stimuliert werden kann und die Synthese von cAMP katalysiert (54). Dieses aktiviert als second messenger eine Proteinkinase, die ihrerseits die Sekretionsgranula aktiviert und somit die Voraussetzung zu einer Fusion mit der Zellmembran schafft (11,67). Die Aktivierung der Adenylatcyclase und die resultierende Amylasesekretion können durch Propranolol, einen spezifischen ß-Blocker, gehemmt werden (3). Wie cAMP können auch seine Analoga Mono- und Dibutyryl-cAMP ohne Reizung der ß-Rezeptoren eine Amylase-Sekretion hervorrufen. Diese experimentellen Befunde unterstreichen die Funktion des cAMP als second messenger in der Reaktion nach ß-Stimulation (39). Es ist jedoch keine deutliche Akkumulation des intrazellulären cAMP notwendig, denn Adrenalin und Noradrenalin bewirken bereits Amylase-Sekretion in Konzen-

trationen, die noch keinen meßbaren Einfluß auf den zellulären cAMP-Spiegel haben (9).
Die bisher beschriebenen Sekretionsmechanismen werden zudem von weiteren Faktoren beeinflußt. Die Ausscheidung der Elektrolyte wird nach bisher vorliegenden Kenntnissen zusätzlich von einer Natrium - Kalium - ATPase gesteuert, die an der interstitiellen Membranseite und an der seitlichen Membran der sekretorischen Zelle lokalisiert ist (58). Diese Pumpe hält unter Ruhebedingungen in der Zelle die niedrigen Natrium- und hohen Kaliumwerte aufrecht. An der interstitiellen und evtl. auch an der luminalen Membranseite existieren wassergefüllte Poren, die sich unter parasympathischer Aktivierung deutlich vergrößern. Ein weiterer Faktor ist eine Natriumchloridpumpe, deren Lokalisation an der interstitiellen Membran und auch an den Seitenwänden entlang den interzellulären Spalten der Drüsenzellen vermutet wird und die ebenfalls durch Acetylcholin aktiviert wird (61).

Die Sekretion der Elektrolyte wird durch drei simultan auf parasympathische Stimulation eintretende Effekte ausgelöst. Zunächst kommt es durch eine Gefäßerweiterung zur Erhöhung des hydrostatischen Druckes. Durch Acetylcholin gesteuert, tritt eine Veränderung in der Proteinmatrix der Zellmembran auf. Dies führt zu einer Vergrößerung der wassergefüllten Poren. Als weiteres kommt es zu einem erhöhten Transport von Natrium aus der Zelle und von Kalium in die Zelle. Dieser Effekt wird auf eine gesteigerte Aktivität der Na - K-ATPase an der Zellmembran zurückgeführt (43).

Die Natriumkonzentration des Speichels ist abhängig von der Flußrate und somit vom Grad der Stimulierung (65). Bei maximaler cholinerger Stimulation nähert sich die Na - Konzentration des Speichels dem Serumwert (29). Bei geringeren Flußraten wird im proximalen Gangsystem Natrium reabsorbiert und Kalium sezerniert, dieser Ionentransfer ist direkt proportional der Flußrate. Eine aktive Rückresorption von Kalium findet nicht statt (53).

Nach Ausschalten der parasympathischen Innervation durch operative Durchtrennung der Chorda tympani kommt es zu einer deutlichen Reduktion der Flußrate (12). Histologisch sind schon kurz nach dem Eingriff die Drüsenendstücke durch Sekretstau vergrößert. Zytoplasmatische Enzyme und Ergastoplasma lassen sich nur noch an der Zellbasis nachweisen. Die Enzymaktivitäten im Sekret sind dagegen deutlich erhöht (12,17). Zwei Wochen später zeigen diese Enzymaktivitäten eine Tendenz zur Normalisierung. Die parasympathische Denervierung führt zu einer verringerten Ruheaktivität, insbesondere am 1. und 7. Tag nach dem Eingriff. Dies dürfte durch den Sekretanstau und die regressiven Zellveränderungen bedingt sein. Nach Stimulation mit Pilocarpin erfolgt auf der denervierten Seite eine um 35 % im Vergleich zur kontralateralen Seite geringere Speichelproduktion. 4 Wochen nach der Operation verschwindet diese Seitendifferenz wieder, dies kann als Hinweis für die erfolgte Regeneration des Systems gelten (17). Auch für die Glandula submandibularis der Ratte konnte eine Phase der Sekretanhäufung mit nachfolgender Atrophie und teilweiser Restitutio nachgewiesen werden (42).

Die Speichelsekretion nach parasympathischer Denervierung ist stark eingeschränkt, jedoch nicht ganz aufgehoben. Diese weiterbestehende Sekretion kann als "Degenerationssekretion" (19) gedeutet werden, könnte aber auch durch das Vorkommen parasympathischer Fasern, die nicht mit der Chorda tympani die Drüse erreichen (2), erklärt werden. Am wahrscheinlichsten dürfte jedoch diese Restsekretion bei der doppelt innervierten Glandula submandibularis als sympathisch induzierte Sekretion von Wasser, Elektrolyten und Proteinen aufgefaßt werden (55).

Nach Durchtrennung der Chorda tympani zeigt die operierte Drüse eine unspezifische Hypersensibilität, die durch die α-adrenergen Rezeptoren vermittelt wird. Auch für Metacholin, ein Parasympathikomimetikum, ist die Drüse deutlich sensibilisiert. So beträgt die Schwellendosis für

Noradrenalin 1/3, für Adrenalin 1/2 und für Metacholin 1/6 der Dosis, die benötigt wird, um die kontralaterale Drüse zur Sekretion anzuregen. Die Empfindlichkeit der ß-Rezeptoren scheint unbeeinflußt (18). Die Erklärung für die spezifisch durch α-Rezeptoren vermittelte Hypersensibilität mag darin liegen, daß nach Stimulation von α-adrenergen und cholinergen Rezeptoren die gleichen intrazellulären Mechanismen in Gang gesetzt werden, während die Erregung der ß-adrenergen Rezeptoren andere zelluläre Reaktionen bewirkt (31,55).

Die in der vorliegenden Untersuchung festgestellte signifikante Erniedrigung der glandulären Kalium-Konzentration dürfte auf vermehrte Kalium-Sekretion der Drüsenzelle zurückzuführen sein, die durch die nach parasympathischer Denervierung überwiegende α-adrenerge Aktivität bedingt ist. Zudem resultiert aus der parasympathischen Denervierung eine Hypersensibilisierung der α-adrenergen Rezeptoren, die obigen Effekt noch verstärken. Bei der Kalium-Sekretion wird im Austausch Natrium in die Zelle gepumpt, dadurch sind die hohen glandulären Natriumkonzentrationen zu erklären. Nachdem bei Ausschaltung des parasympathischen Einflusses niedrige Speichelflußraten auftreten, wird die Natrium-Rückresorption im Gangsystem begünstigt. Auch dies geschieht im Austausch mit Kalium, das im Gangsystem nach bisher vorliegenden Erkenntnissen nicht aktiv resorbiert werden kann. Der normale Reaktionsmechanismus nach parasympathischer Erregung, das heißt Sekretion von Natrium, Aufnahme von Kalium in die Zelle, kann ebenfalls nicht ablaufen. Auch die vom Parasympathikus abhängige NaCl-Pumpe liegt weitgehend still. Da die Chloridionen entlang einem elektrochemischen Gradienten den Natriumionen folgen, erhöht sich auch die Chlorid-Konzentration in der Drüse. Die nach Chordadurchtrennung erhöhte Calciumkonzentration im Drüsengewebe muß ebenfalls im Zusammenhang mit dem Überwiegen des α-adrenergen Einflusses betrachtet werden. So wirken α-adrenerge Rezeptorsysteme wie Ionen-

schleusen, die in gewissen Grenzen Calcium-Ionen durch die Zellmembran ins Zellinnere einführen können. Die hohen intrazellulären Calciumkonzentrationen bedingen wiederum einen Kalium-Efflux aus der Zelle.
Über die Mechanismen des Phosphat-Transportes existieren bisher keine befriedigenden Informationen. Eine Erklärung der in dieser Arbeit beschriebenen Veränderungen der glandulären Phosphat-Konzentrationen kann daher nur hypothetischer Natur sein. Sympathische Stimulation induziert in der menschlichen Submandibularisdrüse eine Zunahme der Phosphat-Sekretion. Möglicherweise liegt diesem Phänomen eine gleichzeitig durch den sympathischen Einfluß bedingte Phosphat-Kumulation in der Drüse zugrunde und die vermehrte Sekretion erfolgt im Sinne eines Überlaufmechanismus. Die in der hier vorliegenden Untersuchung nach parasympathischer Denervierung erhöhte glanduläre Phosphat-Konzentration könnte als Konsequenz eines derartigen Geschehens betrachtet werden (36).
Die Zunahme des ß-adrenergen Stimulus führt in der ersten Phase nach Denervierung zu einer erhöhten Adenylatcyclase-Aktivität und somit zu vermehrter cAMP-Bildung. Diese Aktivierung bedingt eine verstärkte Protein- und α-Amylase-Sekretion der Speicheldrüsen und somit eine Abnahme des glandulären Protein- und α-Amylasegehaltes. In der vorliegenden Arbeit konnte dieser Befund bestätigt werden. Histologisch konnte diese Tatsache durch Atrophie der Drüse und histochemisch durch erhöhten Protein- sowie Peroxidase- und α-Amylasegehalt im Gangsystem nachgewiesen werden.

Eine ständige Reizung des ß-Rezeptorsystems ohne Gegenregulation führt nach einiger Zeit zu dessen Desensibilisierung. Nach intensiver Reizung fällt die Adenylatcyclase-Aktivität um etwa 50 %. Der Speichel enthält keine Adenylcyclase-Aktivität, das Enzym wird somit nicht sezerniert (54). Die Unempfindlichkeit beruht weder auf einer Verminderung der Rezeptorendichte noch auf Veränderungen am Rezeptor selbst, was durch Bindung radioaktiver Liganden nachgewiesen werden konnte (30).

Da die Proteinsynthese bei der Entwicklung der Desensibilisierung nicht beeinträchtigt erscheint, wird vermutet, daß cAMP, als Reaktion auf Catecholamine gebildet, selbst den Prozeß einleitet, bei dem die Zelle die Sensibilität für den Agonisten verliert. Diese These wird unterstützt durch die Tatsache, daß die Verwendung von Phosphodiesterase-Blockern die Desensibilisierung durch Erhöhung des intrazellulären cAMP bedingen kann. Auch das exogen zugeführte cAMP-Analoge Dibutyryl-cAMP ist in der Lage, diese Desensibilisierung einzuleiten (66).
Vermutlich ist eine ganze Kaskade von Faktoren an der Desensibilisierung beteiligt. Die Interaktion des Agonisten mit dem Rezeptor stimuliert die Adenylatcyclase, wodurch die intrazellulären cAMP-Spiegel steigen. Über die Aktivierung einer cAMP-abhängigen Protein-Kinase werden im Zellkern Kernproteine phosphoriliert, was zur RNA-Transkription und zur Bildung einer langlebigen m-RNA führt. Im Cytoplasma wird nun ein "refractoriness protein" produziert, das mit der katalytischen Untereinheit der Adenylatcyclase reagiert und die Stimulierbarkeit des Adenylatcyclase-Systems herabsetzt. Das spekulative "refractoriness protein" konnte bisher noch nicht charakterisiert werden (66). Es konnte aber gezeigt werden, daß mangelnde Antwort auf einen spezifischen Reiz mit einem Aktivitätsabfall der Adenylatcyclase einhergeht (13).
Auch die vermehrte Aktivierung der α-adrenergen Rezeptoren ist an der Minderung der Adenylatcyclase-Aktivität beteiligt. Die Abnahme der zellulären cAMP-Konzentration ist wohl indirektes Ergebnis des hohen Kalium-Verlustes und der Vakuolenbildung infolge der Erregung des α-adrenergen Rezeptors (4). Der α-Rezeptor wirkt somit als Antagonist des ß-Rezeptors durch Erniedrigung der zellulären cAMP-Spiegel. Die Hemmung der Adenylatcyclase-Aktivität ist für so verschiedene Systeme wie Blasenepithelzellen (25), Pankreas (45), Fettgewebe (64) und Hoden (32) beschrieben.

Die oben aufgeführten Verhaltensweisen der Adenylatcyclase-Aktivität stimmen gut mit den hier vorliegenden Befunden überein.
Eine Erklärung für die nach 22 Tagen post operationem beobachtete Normalisierung der Totalproteinkonzentration und Amylase-Aktivität in der denervierten Drüse ergibt sich aus der genannten Desensibilisierung des ß-Rezeptorsystems. Durch die Hemmung der Adenylatcyclase-Aktivität ergeben sich erniedrigte zelluläre cAMP-Spiegel und die Aktivierung und Ausschleusung der Sekretionsgranula ist eingeschränkt. Histologisch und histochemisch zeigt sich eine teilweise Restitutio der Drüse. Die Aktivität der Adenylatcyclase bleibt auch 22 Tage nach dem Eingriff erniedrigt, da sowohl die Desensibilisierung des ß-Rezeptorensystems wie auch die Hypersensibilisierung des α-Rezeptorsystems bestehen bleiben.

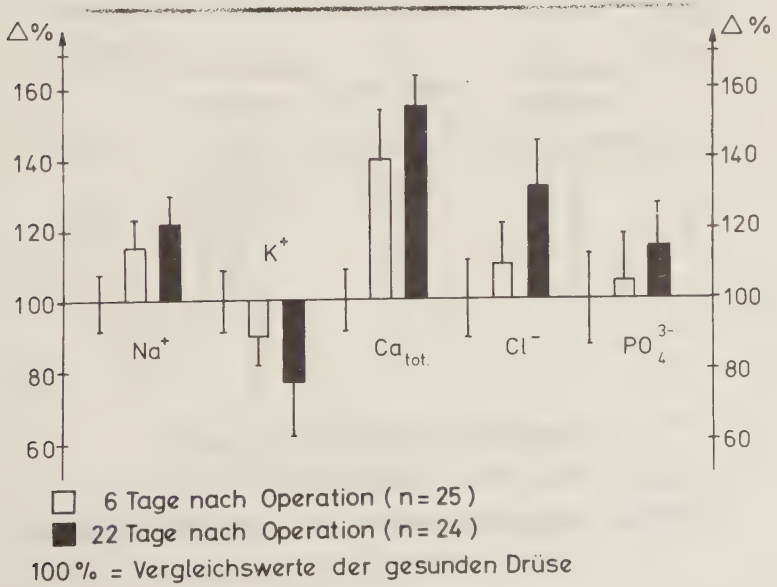
V. ZUSAMMENFASSUNG

Bei 49 Meerschweinchen wurde einseitig die Chorda tympani nach der von Eitschberger und Mitarbeitern entwickelten Operationstechnik durchtrennt. Nach 6 Tagen wurden bei 25 Tieren, nach 22 Tagen bei 24 Tieren die Auswirkungen auf den Elektrolyt- und Proteingehalt sowie auf die Amylase- und Adenylatcyclase-Aktivität der betreffenden Glandula submandibularis im Vergleich zur gesunden kontralateralen Drüse untersucht.

Im Vergleich zur gesunden Drüse zeigten sich nach 6 bzw. 22 Tagen erhöhte Werte für Na^+ (+17%/+26%), Cl^- (+11%/+30%), Ca_{tot} (+41%/+57%) und anorganisches Phosphat (+4%/+15%), während K^+ erniedrigt war (-12%/-30%).

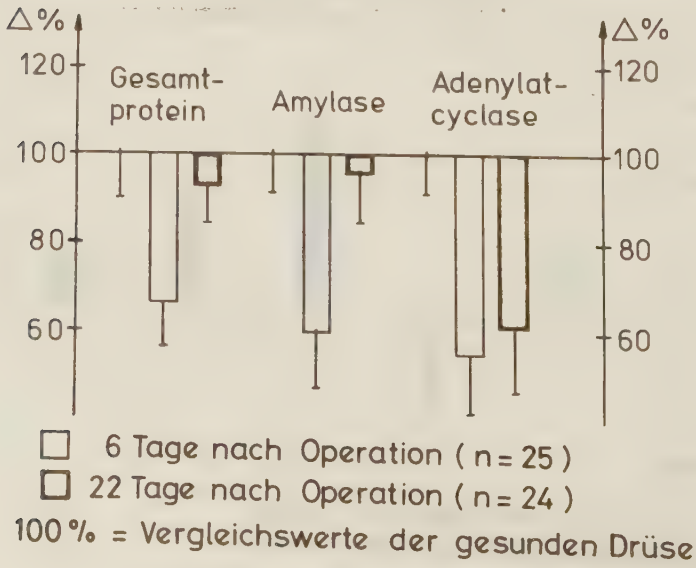
Einen signifikanten Abfall nach 6 Tagen mit anschließender Tendenz zur Normalisierung nach 22 Tagen zeigten Gesamtprotein (-32%/-5%), α-Amylaseaktivität (-41%/-3%) sowie Adenylatcyclaseaktivität (-48%/-42%).

ELEKTROLYTVERÄNDERUNG NACH DURCHTRENNUNG DER CHORDA TYMPANI



Die Abnahme der Kaliumkonzentration ist möglicherweise auf eine verstärkte K^+-Sekretion infolge der nach parasympathomimetischer Denervierung überwiegend α-adrenergen Aktivität zurückzuführen. Die nach Chordadurchtrennung erhöhte Calciumkonzentration im Drüsengewebe muß ebenfalls im Zusammenhang mit dem Überwiegen des α-adrenergen Einflusses betrachtet werden. So wirken α-adrenerge Rezeptorsysteme wie Ionenschleusen, die in gewissen Grenzen Calciumionen durch die Zellmembran einführen können.
Eine ständige Reizung des ß-Rezeptorsystems ohne Gegenregulation führt nach einiger Zeit zu dessen Desensibilisierung. Diese Unempfindlichkeit beruht weder auf einer Verminderung der Rezeptorendichte noch auf Veränderungen am Rezeptor selbst. Auch eine erhöhte Phosphodiesteraseaktivität ist hierfür nicht verantwortlich. Vielmehr liegt die Ursache in einer Abnahme der Adenylatcyclaseaktivität begründet, ein Verhalten, das mit den hier vorliegenden Befunden gut übereinstimmt.

PROTEINVERÄNDERUNG NACH DURCHTRENNUNG DER CHORDA TYMPANI



Eine Zunahme des ß-adrenergen Stimulus führt zu einer verstärkten Protein- und α-Amylasesekretion in den Speicheldrüsen.
Die 6 Tage post operationem erniedrigten Gesamtprotein- und α-Amylasewerte im Drüsengewebe dürften somit auf eine Zunahme der Sekretionsaktivität zurückzuführen sein. Eine Erklärung für die nach 22 Tagen post operationem beobachtete Tendenz zur Normalisierung der Totalproteinkonzentration und α-Amylaseaktivität in der denervierten Drüse ergibt sich möglicherweise aus der oben genannten Desensibilisierung des ß-Rezeptorsystems.

Herrn Professor Dr.med. A. Heidland danke ich für die Überlassung des Themas und die ständige Bereitschaft, mich bei der praktischen und theoretischen Bearbeitung des Themas zu unterstützen.

Herrn Professor Dr.med. K. Kochsiek, Direktor der Medizinischen Universitätsklinik, danke ich für die Überlassung des Arbeitsplatzes und die Übernahme des Korreferates.

Zu besonderem Dank bin ich Herrn Priv.Doz. Dr. E. Eitschberger, Universitäts-HNO-Klinik Erlangen, verpflichtet, der die Operationstechnik entwickelte und unter dessen Anleitung die Tiere operiert wurden.

Dank schulde ich auch Herrn Dr. H. Maier für seine Beratung bei der Durchführung der Arbeit.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. Albegger, K.W.
   Müller, O.
   Albegger, C.
   Zur Circadianstruktur der Glandula parotis. Morphologische und morphometrische Untersuchungen
   HNO 23, 233 (1975)

2. Alm, P.
   Ekström, J.
   Cholinergic nerves of unknown origin in the parotid glands of rats
   Arch. Oral. Biol. 21, 417 (1976)

3. Batzri, S.
   Selinger, Z.
   Enzyme secretion mediated by the epinephrine ß-receptor in rat parotid slices
   J. Biol. Chem. 248, 356 (1973)

4. Batzri, S.
   Selinger, Z.
   Schramm, M.
   Robinovitch, M.R.
   Potassium release mediated by the epinephrine α-receptor in rat parotid slices
   J. Biol. Chem. 248, 361 (1973)

5. Bogart, B.I.
   The final structural localisation of cholinesterase activity in the rat submandibular gland
   J. Histochem. Cytochem. 18, 730 (1970)

6. Bogart, B.I.
   De Lemos, C.L.
   Adrenergic innervation of the rat submandibular glands. An electron microscopic autoradiographic study of the uptake of norepinephrine
   Anat. Rec. 177, 219 (1973)

7. Bogart, B.I.
   Picarelli, J.
   Agonist induced secretions and potassium release from rat submandibular gland slices
   Am. J. Physiol. 235, 256 (1978)

8. Bradham, L.S.
   Fluoride activation of rat brain adenylate cyclase: the requirement for a protein co-factor
   J. Cycl. Nucl. Res. 3, 119 (1977)

9. Butcher, F.R.
   Goldman, J.A.
   Nemerovski, M.
   Effect of adrenergic agents on α-amylase release and adenosine 3'5'-monophosphate accumulation in rat parotid tissue slices
   Biochim. Biophys. Acta 392, 82 (1975)

10. Butcher, F.R.
Rudich, L.
Emler, C.
Nemerovski, M.
Adrenergic regulation of cyclic nucleotide levels, amylase release and potassium efflux in rat parotid gland
Mol. Pharmacol. 12, 862 (1976)

11. Carlsöö, B.
Danielsson, A.
Henriksson, R.
Dynamics of beta adrenoceptor induced amylase release and cyclic AMP accumulation in the guinea pig submandibular gland
Acta Physiol. Scand. 106, 281 (1979)

12. Chilla, R.
Brüner, M.
Arglebe, C.
Function of submaxillary gland following iatrogenic damage to chorda tympani nerve
Acta Otolaryngol. 87, 152 (1979)

13. Conti, M.
Harwood, J.P.
Hsueh, A.J.
Dufau, M.L.
Chatt, K.J.
Gonadotropin-induced loss of hormone receptors and desensitization of adenylate cyclase in the ovary
J. Biol. Chem. 251, 7729 (1976)

14. Donath, K.
Spillner, M.
Seifert, G.
The influence of the autonomic nervous system on the ultrastructure of the parotid acinar cells. Experimental contribution to the neurohormonal sialadenosis
Virchows Arch. Abt. A 364, 15 (1974)

15. Douglas, W.W.
Poisner, A.M.
The influence of calcium on the secretory response of the submaxillary gland to acetylcholine or to noradrenaline
J. Physiol. London 165, 528 (1963)

16. Drummond, G.I.
Duncan, L.
Adenyl cyclase in cardiac tissue
J. Biol. Chem. 245, 976 (1970)

17. Eitschberger, E.
Die Glandulae sublingualis und submandibularis nach praeganglionärer parasympathischer Blockade
Habilitationsschrift, Erlangen (1979)

18. Ekström, J.
Sensitization of the rat parotid gland to secretagogues following either parasympathetic denervation or sympathetic denervation or decentralization
Acta Physiol. Scand. 108, 253 (1980)

19. Emmelin, N.
Trendelenburg, U.
Degeneration activity after parasympathetic or sympathetic denervation
Revies of Physiology, vol. 66, 147
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1972)

20. Eneroth, C.M.
Hökfelt, T.
Norberg, K.A.
The role of the parasympathetic and sympathetic innervation for the secretion of human parotid and submandibular glands
Acta otolaryng. (Stockholm) 68, 369 (1969)

21. Fuchs,
Mathematik für Mediziner und Biologen
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1969)

22. Garret, J.R.
Holmberg, J.
Effects of surgical denervation on the autonomic nerves in parotid glands of dogs
Z. Zellforsch. 131, 451 (1972)

23. Garret, J.R.
Neuro-effector sites in salivary glands
In: Oral Physiology, Emmelin, N. and Zottermann, Y., 83
Pergamon, Oxford (1972)

24. Gates, G.A.
Johns, M.E.
Physiology of the salivary glands
Otolaryngology, W.B. Saunders (1980)

25. Handler, J.S.
Bensinger, R.
Orloff, J.
Effect of adrenergic agents on toad bladder response to ADH, 3'5'-AMP and theophylline
Am. J. Physiol. 215, 1024 (1968)

26. Harrop, T.J.
Garret, J.R.
Effects of preganglionic sympathectomy on the secretory changes in parotid acinar cells of rats on eating
Cell Tiss. Res. 154, 135 (1974)

27. Haymovits, A.
Scheele, G.A.
Cellular cyclic nucleotides and enzyme secretion in the pancreatic acinar cell
Proc. Natl. Acad. Sci. US 73, 156 (1973)

28. Henry, R.J.
Clinical chemistry: Principles and Techniques
Hoeber, New York (1964)

29. Knauf, H.
Frömter, E.
Die Kationenausscheidung der großen Speicheldrüsen des Menschen
Arch. Ges. Physiol. 316, 238 (1970)

30. Lamprecht, S.A.
Zor, U.
Salomon, Y.
Koch, Y.
Ahren, K.
Lindner, H.R.
Mechanism of hormonally induced refractoriness of ovarian adenylate cyclase to luteinizing hormone and prostaglandin E_2
J. Cycl. Nucl. Res. 3, 69 (1977)

31. Leslie, B.A.
Putney, J.W.
Sherman, J.M.
α-adrenergic, ß-adrenergic and cholinergic mechanisms for amylase secretion by rat parotid gland in vitro
J. Physiol. (London) 260, 351 (1976)

32. Levin, J.
Lloyd, C.W.
Lobotsky, J.
Friedrich, E.H.
The effect of epinephrine on testosteron production
Acta Endocrinol. 55, 184 (1967)

33. Lewis, G.P.
Active polypeptides derived from plasma proteins
Physiol. Rev. 40, 647 (1960)

34. Lowry, O.H.
Rosebrough, N.J.
Farr, A.L.
Randall, R.J.
Protein measurements with the folin phenol reagent
J. Biol. Chem. 193, 265 (1951)

35. Lundberg, A.
The electrophysiology of the submaxillary gland of the cat
Acta Physiol. Scand. 35, 1 (1955)

36. Maier, H.
Persönliche Mitteilung

37. Mangos, J.A.
Braun, G.
Excretion of total solute, sodium and potassium in the saliva of the rat parotid gland
Pfluegers Arch. 290, 184 (1966)

38. Mangos, J.A.
McSherry, N.R.
Arvanitakis, S.N.
Autonomic regulation of secretion and transductal fluxes of ions in the rat parotid
Am. J. Physiol. 225, 683 (1973)

39. Mangos, J.A.
McSherry, N.R.
Barber, T.
Arvanitakis, S.N.
Wagner, V.
Dispersed rat parotid acinar cells. II: Characterization of adrenergic receptors
Am. J. Physiol. 229, 560 (1975)

40. Mangos, J.A.
McSherry, N.R.
Barber, T.
Dispersed rat parotid acinar cells. III: Characterization of cholinergic receptors
Am. J. Physiol. 229, 566 (1975)

41. Mangos, J.A.
c-GMP: mediator of cholinergic receptor activation in parotid acinar cells
J. Dental Res. 55, 136 (1976)

42. Müller, H.B.
Die Speicheldrüsen junger Ratten nach Parasympathektomie. Morphologische und histochemische Untersuchungen der Glandula submandibularis und sublingualis
Z. Zellforsch. 88, 80 (1968)

43. Münzel, M. — Die Biochemie der menschlichen Speicheldrüsensekrete
Arch. Oto-Rhino-Laryng. 213, 209 (1976)

44. Novi, A.M. — Synthesis of poly(A)-associated RNA in the prereplicative phase of isoproterenol-stimulated DNA-synthesis
Virchows Arch. Abt. B 17, 319 (1975)

45. Porte, D. — A receptor mechanism for the inhibition of insulin release by epinephrine in man
J. Clin. Invest. 46, 86 (1967)

46. Rachmandran, J. — A new simple method for separation of adenosine 3'5'-cyclic monophosphate from other nucleotides and its use in the assay of adenyl cyclase
Anal. Biochem. 43, 227 (1971)

47. Rauch, S. — Die Speicheldrüsen des Menschen
Thieme-Verlag, Stuttgart (1959)

48. Renner, E. — Mathematisch statistische Methoden in der praktischen Anwendung
Verlag Paul Parey (1970)

49. Sabol, S.L.
Nirenberg, M. — Regulation of adenylate cyclase of neuroblastoma glioma hybrid cells by α-adrenergic receptors.
I: Inhibition of adenylate cyclase mediated by α-receptors
J. Biol. Chem. 254, 1913 (1979)

50. Salomon, Y.
Londos, C.
Rodbell, M. — A highly sensitive adenylate cyclase assay
Anal. Biochem. 58, 541 (1974)

51. Schneyer, L.H.
Schneyer, C.A. — Secretory mechanisms of salivary glands
Academic Press, New York, London (1967)

52. Schneyer, L.H.
Young, J.A.
Schneyer, C.A. — Salivary secretion of electrolytes
Physiol. Rev. 52, 720 (1972)

53. Schneyer, L.H.
Thavornthon, T. — Isoproterenol-induced stimulation of sodium absorption in perfused salivary duct
Am. J. Physiol. 224, 136 (1973)

54. Schramm, M.
Naim, E. — Adenyl cyclase of rat parotid gland
J. Biol. Chem. 245, 3225 (1970)

55. Schramm, M.
Selinger, Z.
The function of α- and ß-adrenergic receptors and a cholinergic receptor in the secretory cell of rat parotid gland
Advances in cytypharmacology, vol. 2, 29 - Raven Press, New York (1974)

56. Schramm, M.
Selinger, Z.
The function of cyclic AMP and calcium as alternative second messengers in parotid gland and pancreas
J. Cycl. Nucl. Res. 1, 181 (1975)

57. Schultz, G.
Hardman, J.G.
Advances in cyclic nucleotide research, vol. 5
Raven Press, New York (1975)

58. Schwartz, A.
Moore, C.A.
Highly active Na,K-ATPase in rat submaxillary gland bearing on salivary secretion
Am. J. Physiol. 214, 1163 (1968)

59. Selinger, Z.
A calcium ionophore stimulating the action of epinephrine on the α-adrenergic receptor
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 71, 128 (1974)

60. Selinger, Z.
Batzri, S.
Eimerl, S.
Schramm, M.
Calcium and energy requirements for K^+-release mediated by the epinephrine α-réceptor in rat parotid slices
J. Biol. Chem. 248, 369 (1973)

61. Shannon, I.L.
Suddick, R.P.
Dowd, F.J.
Saliva: composition and secretion
Karger Verlag, Basel, München (1974)

62. Spearman, T.N.
Pritchard, E.T.
Role of cyclic GMP in submandibular gland secretion
Biochim. Biophys. Acta 588, 55 (1979)

63. Speirs, R.L.
Herring, J.
Cooper, W.D.
Hardy, C.C.
Hind, C.R.K.
The influence of sympathetic activity and isoprenaline on the secretion of amylase from the human parotid gland
Arch. Oral. Biol. 19, 747 (1974)

64. Sutherland, E.W.
Robison, G.A.
The role of cyclic 3'5'-AMP in responses to catecholamines and other hormones
Pharmacol. Rev. 18, 145 (1975)

65. Thaysen, J.H.
Thorn, N.A.
Schwartz, I.L.
Excretion of sodium, potassium, chloride and carbon dioxide in human parotid saliva
Am. J. Physiol. 178 (1954)

66. Terrasaki, W.L.
Brooker, G.
De Vellis, J.
Inglish, D.
Chung-Yi, H.
Moylan, R.D.
Involvement of cyclic AMP and protein synthesis in catecholamine refractoriness
Adv. Cycl. Nucl. Res., vol. 9, 33
Raven Press, New York (1978)

67. Walsh, D.A.
Perkins, J.P.
Brostrom, C.O.
Ho, E.S.
Krebs, E.G.
Catalysis of the phosphorylase kinase activation reaction
J. Biol. Chem. 246, 1968 (1971)

L E B E N S L A U F

Am 5. Januar 1950 wurde ich als erstes Kind des Ehepaares Kurt Kollaschinski und Frau Margarete, geb. Schmauser, in Bad Mergentheim geboren.
Nach 4 Jahren Volksschule von 1956 bis 1960 besuchte ich das Deutschorden-Gymnasium in Bad Mergentheim und bestand 1968 das Abitur.
Ab Juli 1968 war ich bei der Bundeswehr in Nagold, ich schied im Juni 1971 als Leutnant aus.
Im WS 1971/72 begann ich an der Universität Würzburg mit dem Studium der Biologie und Chemie für das höhere Lehramt. Im SS 1975 wechselte ich auf Diplom-Biologie und legte nach dem SS 1975 das Vordiplom ab. Im WS 1978/79 bestand ich die Diplom-Prüfung für Biologie und am 02.01.1979 wurde mir das Diplom ausgehändigt.
Im SS 1973 nahm ich das Studium der Humanmedizin als Doppelstudium auf. Nach der ärztlichen Vorprüfung im WS 1974/75 bestand ich im WS 1975/76 den Ersten Teil, im SS 1978 den Zweiten Teil der Ärztlichen Prüfung. Die praktische Ausbildung erfolgte in den Universitätskliniken Würzburg: Innere Medizin (Prof. Kühn), Kinderheilkunde (Prof. Ströder) und Chirurgie (Prof. Kern). Im Oktober 1979 legte ich den Dritten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung ab und erhielt im November 1979 die Approbation.
Am 25. März 1977 heiratete ich meine Ehefrau Gabriele, geb. Krist, am 04. Juli 1979 und am 31. Juli 1981 wurden unsere beiden Söhne Martin und Markus geboren.
Seit dem 1. Januar 1980 bin ich als wissenschaftliche Hilfskraft an der Universitäts-Kinderklinik Würzburg (Prof. Ströder / Prof. Bartels) tätig.

Herbert Kollaschinski

Druckerei A. Staudenraus Würzburg